

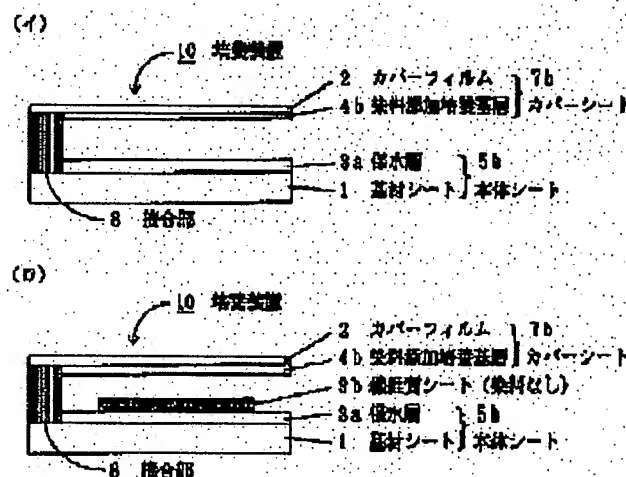
CULTURE APPARATUS

Publication number: JP9206062
Publication date: 1997-08-12
Inventor: MIYAKE KAYOKO
Applicant: DAINIPPON PRINTING CO LTD
Classification:
 - International: C12M1/16; C12M1/16; (IPC1-7): C12M1/16
 - European:
Application number: JP19960042180 19960206
Priority number(s): JP19960042180 19960206

Report a data error here

Abstract of JP9206062

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a culture apparatus for microorganism having excellent usability and performance such as good storability, simplicity in use and culture performance and enabling accurate counting of the cell number and easy fishing of a cell.
SOLUTION: This culture apparatus is provided with a waterproofing substrate sheet 1 and a water-impermeable transparent cover film 2 covering the substrate sheet 1. A water-retaining layer 3a composed of a mixture of a water-insoluble resin and a water-absorbing resin is laminated on the inner face of the substrate sheet 1 or the inner faces of both of the substrate sheet 1 and the cover film 2 and a culture base layer 4b is laminated to either one of the inner faces to obtain a culture apparatus 10. The lamination of the water-retaining layer 3a and the culture base layer 4b is performed by a coating or printing means. The spreading area of a test liquid is easily uniformized by applying a fibrous sheet 9b having a prescribed area to the inner face of the substrate sheet 1.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

【特許請求の範囲】

【請求項1】 防水性の基材シートと該基材シート上に被せられる水分不透過性で透明なカバーフィルムとを備え、該基材シートの内面、または基材シートとカバーフィルムの両方の内面に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層が積層され、更に、そのいずれか一方の内面に微生物の培養基層が積層されていることを特徴とする微生物の培養装置。

【請求項2】 前記培養装置の基材シート側の内面に、更に、所定の面積の繊維質シートが設けられていることを特徴とする請求項1記載の微生物の培養装置。

【請求項3】 前記水不溶性樹脂がアクリル系樹脂であることを特徴とする請求項1または2に記載の微生物の培養装置。

【請求項4】 前記水不溶性樹脂が環状オレフィン系樹脂であることを特徴とする請求項1または2に記載の微生物の培養装置。

【請求項5】 前記水不溶性樹脂が架橋ポリエチレンオキシドであることを特徴とする請求項1または2に記載の微生物の培養装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、菌数検査などに用いられる微生物の培養装置に関し、更に詳しくは、長期保存が可能で、且つ、使用時の操作が簡便で、菌数測定の精度に優れた微生物の培養装置に関する。

【0002】

【従来の技術】食品などの微生物の数を測定する方法として、従来から行われているものに寒天平板混釈法がある。この方法は、予め滅菌したシャーレに、高圧蒸気滅菌した後温度を約45℃とした寒天培地と、別に準備した被検液とをそれぞれ所定量分注し、十分に混釈して放置後、培地が凝固したことを確認して、これを孵卵器などに入れて培養し、所定時間後にシャーレの中に発育したコロニー数を計数するものである。しかし、この方法の場合、寒天培地を高圧蒸気滅菌するためのオートクレーブや、一連の微生物培養操作を無菌的に行うことのできる検査室が必要であり、また、微生物のサンプリングから被検液の調整、分注、培地との混釈、培養、計数に至る微生物検査の操作には熟練を要し、初心者が正確に行うことは難しいものであった。

【0003】そこで、高度の熟練を必要とせず、且つ簡便に、微生物の検査を行う方法が研究された結果、乾燥培地を利用する簡易方式の培養装置が開発され、使用されている。このような簡易方式の培養装置としては、例えば、ペトリフィルムプレート〔スリーエム社商品名〕やBACcT〔島久薬品(株)商品名〕などが知られている。

【0004】前者のペトリフィルムプレートは、防水性の平板と、これに重なるカバーフィルムとからなり、相

対するそれぞれの内面には、接着剤を塗布し、更に両方の接着剤の上に、冷水可溶性ゲル化剤の粉末と冷水可溶性培地成分の粉末とを散布するか、或いは、一方の接着剤の上に冷水可溶性ゲル化剤の粉末と冷水可溶性培地成分の粉末とを散布し、もう一方の接着剤の上には冷水可溶性ゲル化剤の粉末のみを散布し、その後、余分な粉末を払い落とす方法で乾燥培地を形成し、これを更に滅菌して製品としたものである。そして、その使用方法の概略は、先ず前記平板に重ねられたカバーフィルムフィルムを持ち上げ、平板上に接着剤層を介して形成された培地成分と冷水可溶物質とからなる乾燥培地上に被検液を所定量接種し、接種後、カバーフィルムを降ろし、その上からプラスチック製のスプレッダーで押さえて被検液を円形且つ均等に広げて吸収させる。約1分ほどで冷水可溶性ゲル化剤が凝固するので、凝固したらそのままの状態で孵卵器に収納し、所定の温度および時間で培養し、発生したコロニー数を計数するものである。

【0005】また、後者のBACcTは、防水性の平板とこれを覆う透明カバーフィルムとを有し、その防水性平板のカバーフィルムと相対する側の面には、固着剤の溶液中に冷水可溶性ゲル化剤と微生物培養基の混合物を添加して泥状に混練した塗布液を塗布、乾燥して被覆を形成し、その上の少なくとも一部に繊維質吸水性シートを積層し、また、カバーフィルムの防水性平板に相対する側の面には、固着剤の溶液中に、冷水可溶性ゲル化剤と微生物培養基の混合物、または、冷水可溶性ゲル化剤を添加して混練した塗布液を塗布、乾燥して被覆を形成した後、これらを滅菌して製品としたものである。このBACcTの使用法は、防水性の平板を覆うカバーフィルムを持ち上げ、防水性平板上の冷水可溶性ゲル化剤と微生物培養基の混合物の被覆層上に積層された繊維質吸水性シート上に被検液を所定量接種し、その後、カバーフィルムを降ろす。これにより被検液は繊維質吸水性シートの繊維の重なりによる毛细管現象により、吸水性シート全体に拡散し、微生物の培養基が溶解し、冷水可溶性ゲル化剤が吸水してゲル化する。この時繊維質吸水性シートの繊維はゲルの中に包み込まれ、或いはゲルに粘着する。その後、孵卵器に入れ、所定の温度と時間で培養し、発生したコロニー数を計数するものである。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】上記のような培養装置は、微生物の培養を行う際に、その都度ペトリ皿や培地を用意する必要がない点で、使用上の便利性を有している。しかし、前者の場合、その製造において、平板およびカバーフィルムに対してそれぞれ接着剤(粘着剤)を塗布、乾燥し、そして、平板には、冷水可溶性ゲル化剤と培地成分の粉末を、また、カバーフィルムには、冷水可溶性ゲル化剤と培地成分の粉末、または、冷水可溶性ゲル化剤の粉末をそれぞれ散布し、余分な粉末を払い落とす工程があり、これらは生産性の点で必ずしも効率的

ではなく、また、散布する粉末の付着にむらを生じるなど、付着量が不安定になり易く、製造コストが高価になるという問題がある。

【0007】一方、後者の場合は、前記したように防水性平板側の繊維質吸水性シート上に被検液を滴下することにより、繊維間の毛細管現象でシート全体に被検液が広がり、その下の冷水可溶性ゲル化剤のゲル化と培養基の溶解が行われる。この時、繊維質吸水性シートの繊維はゲルの中に包み込まれ、或いはゲルに粘着されている。従って、被検液の広がり領域は略一定にできるが、菌体は、繊維質吸水性シートの繊維の中に入り込んでおり、シート内で増殖が進行する。この時、実質的に使用されている水溶性の固着剤が溶解してゲルの表面に存在し、これにより、発生したコロニーが滲んだ状態となり不鮮明になる。このため特に、菌体が接近して増殖した場合には、計数が難しくなるという問題がある。また、繊維質吸水性シートがゲル中に包み込まれ、或いはゲルに粘着しているため、培養後、釣菌の必要がある場合でもカバーフィルムを持ち上げると繊維質吸水性シートが破壊され釣菌ができないという問題もある。

【0008】本発明は、上記のような問題点を鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、ゲル化剤や培養基が均一に、安定した塗布量で生産性よく塗布され、また、培養装置として、保存性があり、操作も簡便で、発生したコロニーを明瞭に判別でき、必要な場合には釣菌も容易にできるという、生産性、保存性、簡便性および培養精度に優れると共に利用範囲の広い微生物の培養装置を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記の課題は下記の本発明により解決された。即ち、請求項1に記載の発明は、防水性の基材シートと該基材シート上に被せられる水分不透過性で透明なカバーフィルムとを備え、該基材シートの内面、または基材シートとカバーフィルムの両方の内面に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層が積層され、更に、そのいずれか一方の内面に微生物の培養基層が積層されていることを特徴とする微生物の培養装置からなる。

【0010】また、請求項2に記載の発明は、前記培養装置の基材シート側の内面に、更に、所定の面積の繊維質シートが設けられていることを特徴とする請求項1に記載の微生物の培養装置である。請求項3に記載の発明は、前記水不溶性樹脂がアクリル系樹脂であることを特徴とする請求項1または2に記載の微生物の培養装置である。

【0011】請求項4に記載の発明は、前記水不溶性樹脂が環状オレフィン系樹脂であることを特徴とする請求項1または2に記載の微生物の培養装置である。そして、請求項5に記載の発明は、前記水不溶性樹脂が架橋ポリエチレンオキシドであることを特徴とする請求項1

または2に記載の微生物の培養装置である。

【0012】

【発明の実施の形態】以下に本発明の培養装置の構成材料など、実施の形態について説明する。

（基材シート）本発明の培養装置において、基材シートは、防水性を有することが必要であり、例えば、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリ塩化ビニルなどのプラスチックシートの単体、或いは、これらの積層体を使用できる。これらのプラスチックシートは、無着色の透明でもよいが、白色に着色したものが生育させたコロニーを観察し易く、計数し易い点で好ましい。プラスチックシート以外では、耐水加工を施した紙も使用可能であり、例えば、紙に合成樹脂を塗布または押し出しコートしたもの、或いは、プラスチックフィルムをラミネートしたものなどが使用できる。

【0013】基材シートは、カールなどがなく平坦であることが好ましく、その厚さは、特に限定はされないが、通常、50～500 μ m程度の範囲であり、80～300 μ m程度がより好ましい。基材シートには、予め水に不溶性で微生物の生育に影響を与えないインキで柵目柄を印刷しておくことが、コロニーの計数を容易にする点で好ましい。印刷の版式は、特に限定されず何でもよいが、着色剤、樹脂、溶剤などの選択範囲が広い点、および、後加工で保水層、培養基層などを積層する際、ロール状で連続的に加工する方が生産性がよく、これらを考慮して巻取り印刷の可能な輪転グラビア印刷などが好ましい。柵目の大きさは、通常1cm角程度が適当である。

【0014】（カバーフィルム）基材シート上に被せて用いるカバーフィルムは、防水性、水蒸気不透過性を有すると同時に、微生物の培養後、カバーフィルムを通してコロニーを計数するのが一般的であるため透明であることが好ましく、例えば、前記基材シートで挙げたようなポリプロピレン、ポリエチレン、ポリエステル、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリ塩化ビニルなどのプラスチックフィルムを単体、或いは、これらの積層体で使用することができる。また、培養試験の際、カバーフィルムは、基材シートから持ち上げて被検液を滴下するため、適度の柔軟性を有する材質および厚さのものが好ましい。従って、カバーフィルムの厚さは、10～200 μ m程度が好ましく、20～100 μ m程度が更に好ましい。

【0015】また、カバーフィルムは、基材シートと接合せず、別体として用いることもできる。只、培養中に位置ずれなどを生じた場合、落下菌による汚染やゲルの水分蒸発の問題がでるため、いずれか一端で基材シートと接合しておくことが好ましい。尚、上記基材シートまたはカバーフィルムに保水層、培養基層などを積層する際、それらの接着性が不足する場合には、基材シートま

たはカバーフィルムの積層面にコロナ放電処理やプライマーコートなどの前処理を施すことができる。このほか、基材シートおよびカバーフィルムは、培養する微生物の種類により、適した気体透過性、主に酸素透過性を有することが好ましく、前記水蒸気不透過性と併せて判断すると、少なくとも基材シートとカバーフィルムのいずれか一方には、ポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリオレフィンを用いることが好ましい。

【0016】(保水層)本発明の培養装置において、基材シート、または基材シートとカバーフィルムの両方の内面に積層する保水層は、培養に際して接種された被検液の水分を吸収して微生物の培養に適したゲルを形成し、微生物を捕捉すると同時に、吸収した水分を微生物に供給する機能を果たすものである。また、保水層は、被積層材である基材シートやカバーフィルムに対して適度の接着性を有することも必要である。このため、保水層は、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物で形成する。その形成方法は、水不溶性樹脂をバインダーとして、これを有機溶剤で溶解して溶液とし、その中に吸水性樹脂の粉末を分散させて塗布液とし、これをロールコート、マイクロバーコート、エアナイフコート、カーテンコート、スプレーコートなどのコーティング方式や、スクリーン印刷方式などの公知の塗布手段により、基材シートもしくはカバーフィルムに塗布し、乾燥することにより形成できる。この場合、水不溶性樹脂がバインダーの働きをするため、吸水性樹脂には、接着性の要素を考慮する必要がなく、ゲル形成性に重点を置いた選択が可能となる。その結果、接着性とゲル形成性の両方に優れた保水層を形成することができるようになる。尚、保水層の吸水性樹脂は、通常、粒子状に分散された状態で水不溶性樹脂により被積層面に固着されているが、培養に際して被検液の水分と接した時には、これを吸収し、膨潤して、表面に均一なゲル膜を形成する。また、水不溶性樹脂の存在は、被検液の広がりが必要以上に大きくならないよう抑制する点でも有効に作用する。

【0017】このような保水層の水不溶性樹脂としては、例えば、各種のポリアクリレート、ポリメタクリレート、およびその共重合体などのアクリル系樹脂、そして、エチレン成分と環状オレフィン成分とからなる環状オレフィン系ランダム共重合体、または、一種以上の環状オレフィン成分からなる開環重合体もしくはこの水素化物などの環状オレフィン系樹脂、ポリエステル系樹脂、ポリウレタン系樹脂、ポリビニルブチラール、スチレン・ブタジエン共重合体系樹脂、そして、架橋ポリエチレンオキシドなどが挙げられ、これらを単独または混合して使用することができる。尚、上記の中、架橋ポリエチレンオキシドは、水不溶性であると同時に吸水性を有するため、これを用いる場合には、併用する吸水性樹脂の量を減らすことができる。

【0018】また、吸水性樹脂としては、ポリビニルア

ルコール系樹脂、ポリアクリル酸系樹脂、ビニルアルコール・アクリル酸共重合体系樹脂、ポリエチレンオキシド、ポリアクリルアミド系樹脂、ポリビニルピロリドン系樹脂、ポリ-N-ビニルアセトアミド、および、これらの架橋物のほか、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カラギーナン、グアールガム、キサンタンガムなどが挙げられ、これらも単独または混合して使用することができる。

【0019】このような保水層の厚さは、通常、25～100 μm 程度の範囲が好ましく、40～80 μm の範囲がより好ましい。只、保水層を基材シートとカバーフィルムの両方の内面に設ける場合は、両者の総厚がこの範囲であればよい。保水層の厚さが25 μm 未満の場合は、水分吸収能力が不足するため好ましくなく、また、厚さが100 μm を超える場合は、その必要性がなく、材料の無駄であり、生産性も低下するため好ましくない。また、保水層の形成に有機溶剤系の塗布液を使用できるため、水系の塗布液と比較した場合、特に、乾燥が容易となり、生産性を著しく向上できる利点がある。

【0020】(培養基層)本発明の培養装置では、基材シートの内面、または基材シートとカバーフィルムの両方の内面に前記保水層を積層した後、そのいずれか一方の内面または両方の内面に微生物の培養基層を積層する。従って、培養基層を積層する面は、保水層面またはカバーフィルム面のいずれかである。そして、培養基層の主成分は、微生物の栄養成分であり、例えば酵母エキス、ペプトン、リン酸水素二カリウム、ぶどう糖、乳糖、塩化ナトリウムなどの中から発育させようとする微生物の種類に応じて適宜選択し、所定の割合で混合した混合物である。しかし、これだけでは、塗布液として上記の面に塗布しても良好な接着性が得られないため、水溶性もしくは両溶性(水および有機溶剤の両方に溶解する)の樹脂をバインダーに使用し、その水または有機溶剤の溶液に、所定の割合に混合した栄養成分を添加し、これを塗布液として、前記保水層の場合と同様、公知の塗布手段で塗布し、乾燥することにより培養基層を積層することができる。この場合も、バインダーに両溶性の樹脂を使用すれば、有機溶剤系の塗布液として加工でき、乾燥など加工性を向上できるため一層好ましい。

【0021】上記のような水溶性もしくは両溶性のバインダー樹脂として、具体的には、ポリアクリルアミド、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリエチレングリコールなどを使用することができる。尚、培養基層の塗布量は、配合にもよるが、通常、微生物の栄養成分の量が4 g/m^2 (固形分)程度になるように調整して塗布することが好ましい。

【0022】以上のような保水層および培養基層は、それぞれの塗布面に全面ベタで塗布してもよく、また、パターン状に塗布してもよい。パターン状に塗布する場合、その形状は、通常、1mlの被検液を直径が略5cmの円形(面積 20cm^2)に広げて培養しているため、これに合わせて、直径5cmの円形にすることが好ましい。このように形成することにより塗布液の無駄をなくすることができる。また、いずれの場合も、接種した被検液を所定の面積に広げるためには、スプレッター(所定の面積の治具)を使用してもよいが、例えば、直径を略5cmの円形にカットした親水性の繊維質シートを別に用意し、これを基材シート側の最内面に積層するか、或いは、置くようにして用いてもよい。繊維質シートを用いた場合には、その上に被検液を接種することにより、繊維質シートの繊維間の毛細管現象により全体に被検液が拡散、浸透し、その面積内の培養基層の溶解、および保水層のゲル化が達成される。

【0023】(繊維質シート)上記のような繊維質シートとしては、水分吸収性の良好な不織布や濾き紙などが使用できる。不織布では、レーヨン系のほかポリオレフィン系繊維を使用した不織布も使用できるが、レーヨン系の不織布の方が親水性に優れており、被検液の拡散も迅速に行われる点で好ましい。濾き紙では、水分の吸収性のよいものが適しており、表面コートのある紙やサイズ効果の強い紙は好ましくなく、フィルターペーパーのようなタイプの紙が適している。

【0024】繊維質シートの厚さは、水分の吸収能力、透明性(生育したコロニーの見やすさ)などを考慮して決めればよく、不織布の場合の目付け量、紙の場合の坪量で $10\sim 30\text{g}/\text{m}^2$ 程度の範囲の比較的薄いものが適している。このような繊維質シートの大きさは、前記したように、通常、その上に接種する被検液の量を1mlとした場合、直径5cm程度の円形にすることが、被検液を繊維質シートの全面に均一に拡散、浸透させ培養に適した培地を形成できる点で好ましい。

【0025】(染料について)本発明の培養装置においては、微生物の増殖に必要な栄養成分や水分とは別に、微生物に代謝され得る染料、例えば、トリフェニルテトラゾリウムクロライド(以下TTCと表示)、p-トリルテトラゾリウムレッド、テトラゾリウムバイオレットなどを添加することによって、形成したコロニーを着色させ、計数を容易にすることができる。

【0026】このような染料を培養装置に適用する方法は、特に限定されるものではなく、例えば、繊維質シートを使用する場合には、水溶性樹脂をバインダーとする染料の塗布液を作成し、これを繊維質シートに塗布、乾燥して用いてもよく、また、前記塗布液を染料層用塗布液として、カバーフィルムの内面などに塗布、乾燥し、単独の染料層として積層してもよい。更に、培養基層を積層する際、その塗布液に予め染料を添加しておいて、

塗布、乾燥し、培養基層に含有させてもよい。染料自体の添加量は、培養部分の面積が直径5cmの円形、即ち、略 20cm^2 の場合、この部分に $0.01\sim 0.04\text{mg}$ 程度含有するように調整することが好ましく、平方メートル当たりに換算すると、 $5\sim 20\text{mg}/\text{m}^2$ 程度含有させることが好ましい。

【0027】

【実施例】次に、図面および実施例により、本発明を更に具体的に説明する。図1(イ)、(ロ)、図2

(イ)、(ロ)、図3(イ)、(ロ)、図4(イ)、

(ロ)は、それぞれ本発明の培養装置の一実施例の構成を説明する模式断面図である。尚、本発明はこれらに限定するものではない。また、各図面に付した符号は、異なる図面においても、理解の妨げにならない範囲で同じ名称のものには同じ符号を用いた。

【0028】図1の(イ)に示した培養装置10は、基材シート1上に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層3aを積層し、更にその上に微生物の培養基層4aを積層した後、これを所定の寸法(例えば、縦7cm×横8cmの長方形)にカットして本体シート5aを構成し、その上に、カバーフィルム2の一方の面に微生物が代謝し得る染料を含有する染料層6を積層し、これを本体シート5aと同寸法にカットして構成したカバーシート7aを、その染料層6面が本体シート5aの培養基層4aに接するように重ね合わせて置き、該カバーシート7aが開閉できるように、その長手方向の一端を接合部8で本体シート5aと、熱接着、或いは接着剤などを用いて接合した構成である。

【0029】図1(ロ)に示した培養装置10は、前記図1の(イ)に示した培養装置の構成において、本体シート5aの内面に、更に、所定の寸法(例えば、直径5cmの円形)にカットした染料付き繊維質シート9aを設け、カバーフィルム2の内面に積層した染料層6を除いて構成したものである。この場合、図には示していないが、培養基層4aに染料を添加して、染料付き繊維質シート9aを染料なしの繊維質シートとしてもよく、また、カバーフィルム2の内面に積層された染料層6をそのまま残し、染料付き繊維質シート9aを染料なしの繊維質シートとしてもよい。

【0030】図2の(イ)に示した培養装置10は、基材シート1上に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層3aを積層し、これを所定の寸法(例えば、縦7cm×横8cmの長方形)にカットして本体シート5bとし、その上に、カバーフィルム2の一方の面に染料を添加した培養基層4bを積層し、これを本体シート5bと同寸法にカットして構成したカバーシート7bを、その染料添加培養基層4b面が本体シート5bの保水層3aに接するように重ね合わせて置き、該カバーシート7bが開閉できるように、図1の(イ)の場合と同様に、その一端を接合部8で本体シート5bと接合した

構成である。

【0031】図2の(ロ)に示した培養装置10は、前記図2の(イ)に示した培養装置の構成において、本体シート5bの内面に、所定の寸法(例えば、直径5cmの円形)にカットした繊維質シート(染料なし)9bを追加して設けた構成である。

【0032】図3の(イ)に示した培養装置10は、基材シート1上に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層3aと、染料を添加した培養基層4cを順に積層し、これを所定の寸法(例えば、縦7cm×横8cmの長方形)にカットして本体シート5cを構成し、その上に、カバーフィルム2の一方の面に保水層3b(保水層3bの組成は、前記基材シート1に積層した保水層3aと同一)を積層し、これを本体シート5cと同じ寸法にカットして構成したカバーシート7cを、その保水層3b面が本体シート5cの染料添加培養基層4cに接するように重ね合わせて置き、該カバーシート7cが開閉できるように、図1の(イ)の場合と同様、その一端を接合部8で本体シート5cと接合した構成である。

【0033】図3の(ロ)に示した培養装置10は、前記図3の(イ)に示した培養装置の構成において、本体シート5cの内面に、所定の寸法(例えば、直径5cmの円形)にカットした繊維質シート(染料なし)9bを追加して設けた構成である。

【0034】図4の(イ)に示した培養装置10は、基材シート1上に、水不溶性樹脂と吸水性樹脂の混合物からなる保水層3aを積層し、これを所定の寸法(例えば、縦7cm×横8cmの長方形)にカットして本体シート5bを構成し、その上に、カバーフィルム2の一方の面に、前記基材シート1に設けた保水層3aと同じ組成の保水層を、保水層3bとして積層し、更にその上に、染料を添加した培養基層4bを積層し、これを本体シート5bと同じ寸法にカットして構成したカバーシート7dを、その染料添加培養基層4b面が、本体シート5bの保水層3aに接するように重ね合わせて置き、該カバーシート7dが開閉できるように、図1の(イ)の場合と同様、その一端を接合部8で本体シート5bと接合した構成である。

【0035】図4の(ロ)に示した培養装置10は、前記染料添加培養基層用塗布液の組成

①ポリアクリルアミドの10重量%水溶液	170重量部
②ペプトン	30重量部
③酵母エキス	15重量部
④ぶどう糖	6重量部
⑤TTC	0.1重量部

【0040】(繊維質シート) 繊維質シートとして目付量30g/m²のレーヨン不織布を用い、これを直径5cmの円形に打ち抜いて繊維質シートとした。

【0041】以上のように作成した本体シート、カバーシート、繊維質シートを培養装置の部材として、その本

図4の(イ)に示した培養装置の構成において、本体シート5bの内面に、所定の寸法(例えば、直径5cmの円形)にカットした繊維質シート(染料なし)9bを追加して設けた構成である。

【0036】以下に、本発明の培養装置の具体的な実施例を挙げ、実際に培養試験を行い、その性能を標準寒天培地を用いた混釈法と比較して説明する。

〔実施例1〕

(本体シート) 坪量160g/m²の巻き取り状のコップ原紙の表面に、ピッチが縦・横各1cmの柵目柄をグラビア輪転印刷機により印刷した後、その両面に低密度ポリエチレン(以下LDPEと表示)(ミラソン16SP 三井石油化学工業製)を厚さ20μmで押し出しコートした積層紙を基材シートとし、その柵目柄を印刷した側のLDPEコート面に、下記の組成の保水層用塗布液をマイクロバーコーターにより乾燥時の塗布量が40g/m²となるように塗布、乾燥して保水層を積層し、これを縦7cm×横8cmの長方形にカットして本体シートを作成した。

【0037】保水層用塗布液の組成

①水不溶性樹脂 環状オレフィンコポリマー
(アベル 三井石油化学工業製)の20重量%トルエン溶液 100重量部
②吸水性樹脂 ポリN-ビニルアセトアミド
(PNVA NA-010 昭和電工製)の50μmメッシュ通過の粉末 50重量部

上記①の水不溶性樹脂のトルエン溶液中に、②の吸水性樹脂の粉末を混合、分散させて保水層用塗布液を作成した。尚、塗布時にはトルエンにて粘度調整できる。

【0038】(カバーシート) カバーシートの基材となるカバーフィルムとして、厚さ50μmの2軸延伸ポリプロピレンフィルム(OP U-1 トーセロ製)(片面コロナ放電処理)を用い、そのコロナ放電処理面に下記組成の染料添加培養基層用塗布液をロールコーターにより乾燥時の塗布量が5.5g/m²となるように塗布、乾燥して染料添加培養基層を積層し、これを縦7cm×横8cmの長方形にカットしてカバーシートを作成した。

【0039】

体シートとカバーシートとを、本体シートの保水層面とカバーシートの染料添加培養基層面とが接するように、それぞれの長辺側と短辺側を合わせて重ね合わせ、長辺側の一端の内面同士を6mm幅の両面粘着テープで接合した。そして、本体シートとカバーシートの間の本体シ

トの上の略中央部に繊維質シートを挿入した後、 γ 線照射による滅菌を行って実施例1の培養装置とした。

【0042】〔実施例2〕

(本体シート) 基材シートとして、実施例1と同様に坪量 160 g/m^2 のコップ原紙の表面にピッチが縦・横各 1 cm の柵目柄をグラビア印刷方式で印刷し、その両面にLDPE(ミラソン16SP 三井石油化学工業製)を厚さ $20\text{ }\mu\text{m}$ に押し出しコートした積層紙を用い、その柵目柄を印刷した側のLDPEコート面にコロ

保水層用塗布液の組成

①水不溶性樹脂

アクリル樹脂(ダイナールBR-112 三菱レイヨン製)の
30重量%トルエン溶液

80重量部

②吸水性樹脂

ポリN-ビニルアセトアミド(PNVA NA-010 昭和電工製)
の $50\text{ }\mu\text{m}$ メッシュ通過の粉末

20重量部

上記①の水不溶性樹脂のトルエン溶液中に、②の吸水性樹脂の粉末を混合、分散させて保水層用塗布液を作成し

た。尚、塗布時には、トルエンで粘度調整できる。

【0043】

培養基層用塗布液の組成

①ポリビニルピロリドンの10重量%エタノール溶液

170重量部

②ペプトン

30重量部

③酵母エキス

15重量部

④ぶどう糖

6重量部

【0045】(カバーシート) 厚さ $25\text{ }\mu\text{m}$ の2軸延伸ポリプロピレンフィルム(OP U-1 トーセロ製)(片面コロナ放電処理)をカバーフィルムに用い、そのコロナ放電処理面に、下記の組成の染料(TTC)層用塗布液をリバースロールコーターにより、乾燥時の塗布

量が 1.5 g/m^2 となるように塗布、乾燥した後、電子線を照射してポリアクリルアミドの架橋を行ってTTC層を積層した。その後、このシートを縦 7 cm ×横 8 cm の長方形にカットしてカバーシートとした。

染料層(TTC)層用塗布液の組成

①ポリアクリルアミド10重量%水溶液

100重量部

②染料 TTC

0.1重量部

【0046】以上のように作成した本体シートとカバーシートとを培養装置の部材として、本体シートの培養基層面とカバーシートの染料層面とが接するように、それぞれの長辺側と短辺側とを合わせて重ね合わせ、その長辺側の一端の内面同士を 6 mm 幅の両面粘着テープで接合した。その後、これに γ 線を照射して滅菌し、実施例2の培養装置とした。尚、この培養装置では、繊維質シートを使用していないため、培養試験に際しては、被検液

の広がり略直径 5 cm の円形とするため、同形状のスプレッダーを用いるものとする。

【0047】〔実施例3〕実施例1の培養装置の構成において、基材シートに塗布した保水層用塗布液を下記の組成に変更し、且つ、その塗布量を乾燥時の塗布量で 30 g/m^2 となるように塗布したほかは、総て実施例1と同様に加工して実施例3の培養装置を作成した。

【0048】

保水層用塗布液の組成

①水不溶性樹脂

架橋ポリエチレンオキシド(アクアコーク 住友精化製)

15重量部

②溶剤 トルエンとテトラヒドロフラン(THF)の混合溶剤
(トルエン/THF 重量比 2:1)

285重量部

③吸水性樹脂

ポリN-ビニルアセトアミド(PNVA NA-010 昭和電工製)
の $50\text{ }\mu\text{m}$ メッシュ通過の粉末

35重量部

上記塗布液は、①の水不溶性樹脂を②の溶剤で溶解し、溶液状とした後、これに③の吸水性樹脂を混合、分散し塗布液とした。

【0049】〔培養試験およびその結果〕以上のように作成した実施例1、2、3の培養装置各5個を使用して、下記の方法で作成した菌液を滅菌済みピペットで各

1ml宛、実施例1および3の場合はその繊維質シート上に接種してカバーシートを被せ、また、実施例2の場合は、本体シートの培養基層の上に接種してカバーシートを被せ、その上からスプレッダーで押さえて直径5cmの円形に広げた後、それぞれを1分間静置し、次いで、37℃に調節した孵卵器に入れて48時間培養を行った。また、実施例とは別に、比較用として実施例と同じ下記の方法で作成した菌液を用いて、各1mlを従来の混釈法により、5個のペトリ皿に準備した標準寒天培地各20mlに混釈して比較試料を作成し、実施例と同じ条件で培養を行った。

試料	1	2	3	4	5	平均値
実施例1	83	76	79	85	81	81
実施例2	73	79	80	84	75	78
実施例3	82	75	78	76	84	79
比較試料 (標準寒天培地)	75	81	77	87	82	80

【0052】表1に示した培養試験結果から明らかなように、本発明の実施例1、2、3の培養装置を用いた培養試験の結果は、従来の混釈法による標準寒天培地を用いた培養試験の結果と略一致しており、培養性能が良好で、操作も容易で簡便な培養装置として十分実用性のあることを示している。また、発生したコロニーも鮮明に観察でき、計数も容易に実施できた。更に、実施例1～3の各試料は、培養後、そのカバーシートを容易に剥がすことができ、釣菌することも容易であった。

【0053】

【発明の効果】以上詳しく説明したように本発明によれば、微生物の培養に際して、ゲルを形成するための保水層、および、微生物の培養基層をコーティング方式、或いはスクリーン印刷などの印刷方式で設けることができる。従って、均一で安定した塗布量の各層を材料ロスも少なく、且つ、生産性よく積層できる。特に、比較的厚盛りを必要とする保水層を、水不溶性樹脂をバインダーとする有機溶剤系の塗布液で形成できるため、被塗布面に対する接着性もよく、乾燥も容易であり生産性が著しく向上し、培養に際しても被検液が必要以上に広がることなく、所定の面積内で効果的に培養することができる。そして、本体シート上に繊維質シートを設けた場合には、被検液をその上に接種するだけで、スプレッダーを用いなくとも被検液は、所定の面積に広がり、培養基層を溶解し、そして、保水層表面にゲルを形成し、培養が可能となる。従って、培地を調整するための加温溶解や高圧滅菌などの操作が不要であり、熟練した技術者で

【0050】菌液の作成

菌株として大腸菌を使用し、液体培地(NUTRIENT BROTH)にて37℃で24時間、振盪培養を行い、その菌液を滅菌水で菌数が 10^2 /mlとなるように希釈して、培養試験に用いる菌液とした。上記の実施例1、2、3および比較試料の培養試験により発生したコロニーの数をそれぞれ計数し、各々のデータと平均値を表1に示した。

【0051】

【表1】 菌数測定結果(大腸菌)〔単位：個〕

なくとも、容易に微生物検査など培養試験を行うことができる。そして、使用前は、滅菌された乾燥状態であり、長期保存が可能で、何時でも迅速に培養試験することができる。

【0054】また、繊維質シートは、比較的薄く透視可能であり、均一に分散したコロニーを明瞭に判別でき、計数も容易に実施できる。そして、培養後、カバーシートは、本体シート側と特に粘着することもなく、容易に剥がすことができるので自由に釣菌することもできる。更に、使用後の廃棄性についても、容易に焼却することができるという、簡便性、保存性などの使用適性と性能に優れた培養装置を容易に提供できる効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】(イ)、(ロ)は、それぞれ本発明の培養装置の一実施例の構成を説明する模式断面図である。

【図2】(イ)、(ロ)は、それぞれ本発明の培養装置の別の実施例の構成を説明する模式断面図である。

【図3】(イ)、(ロ)は、それぞれ本発明の培養装置の更に別の実施例の構成を説明する模式断面図である。

【図4】(イ)、(ロ)は、それぞれ本発明の培養装置の更に異なる一実施例の構成を説明する模式断面図である。

【符号の説明】

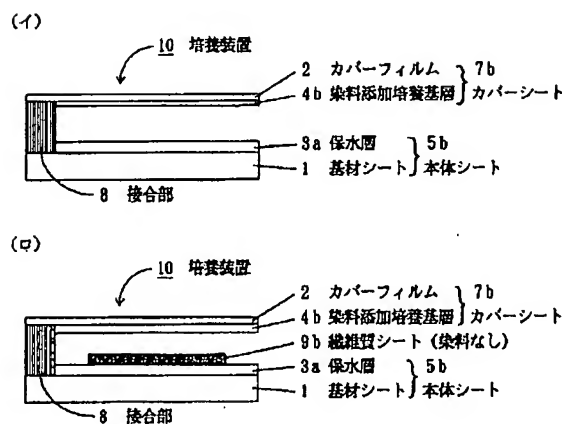
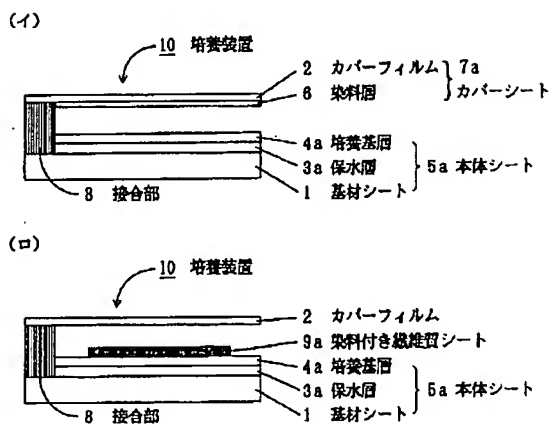
- 1 基材シート
- 2 カバーフィルム
- 3a、3b 保水層

4a 培養基層
 4b、4c 染料添加培養基層
 5a、5b、5c 本体シート
 6 染料層
 7a、7b、7c、7d カバーシート

8 接合部
 9a 染料付き繊維質シート
 9b 繊維質シート（染料なし）
 10 培養装置

【図1】

【図2】



【図3】

【図4】

